

文章编号: 1000-4025-(2000)02-0201-05

# 高寒草甸珠芽蓼抗氧化物质含量的 季节变化及与太阳辐射的关系

易现峰, 贲桂英

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

**摘要:** 对高寒草甸珠芽蓼中几种抗氧化物质含量的季节变化测定发现, 珠芽蓼叶片内抗坏血酸、超氧阴离子自由基的相对含量、超氧化物歧化酶的活性以及紫外辐射吸收色素在 5 月至 8 月间呈现“拱型”曲线变化, 不同物质分别以 6、7 月份最高, 分别与海北站地区的太阳辐射呈现一定的相关性。

**关键词:** 高寒草甸; 珠芽蓼; 抗氧化物质; 太阳辐射

**中图分类号:** Q 948      **文献标识码:** A

## Seasonal variation in antioxidants of *Polygonum viviparum* and its relation to solar radiation in alpine meadow

YIXian-feng, BEN Guirying

(The Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining, Qinghai 810001)

**Abstract:** Study on the seasonal variation in contents of antioxidants of *Polygonum viviparum* and its relation to solar radiation indicated that the contents ascorbic acid, superoxide radical ( $O_2^-$ ) and of ultraviolet absorbing compounds, and the activity of superoxidase (SOD) exhibited convex course from May to August. Seasonal changes in antioxidants of *Polygonum viviparum* were related to solar radiation.

**Key words:** alpine meadow; *Polygonum viviparum*; antioxidants; solar radiation

高寒草甸也称高山草甸, 在青藏高原以嵩草属植物组成的群落为主。珠芽蓼 (*Polygonum viviparum*) 是嵩草草甸群落的伴生种, 它分布于海拔 2500~4000m 之间。珠

收稿日期: 1999-03-22

基金项目: 国家自然科学基金课题(39570129)。

作者简介: 易现峰(1975—), 男(汉族), 硕士研究生, 现在青海大学农学系工作(西宁 810016)。

芽蓼如何适应高寒地区的强太阳辐射而维持自身的光合作用,为此,我们以高寒草甸珠芽蓼为材料,研究其叶片内几种抗氧化物质含量的季节动态变化,探寻珠芽蓼适应强光辐射和避免潜在光抑制的可能机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验样地

实验样地设在中国科学院海北高寒草甸生态系统定位研究站(简称,海北站)地区的开阔地带。该站位于青藏高原的东北隅,地处祁连山东段冷龙岭南麓,北纬 37°29' ~ 37°45',东经 101°12' ~ 101°33';海拔 3200 m。定位站地区年平均温度为-1.7℃,无明显四季之分,只有冷暖季节之别。属于高原大陆性气候。珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)分别于5、6、7、8月中下旬取样,采集叶片于冰壶内带回西宁,放入冰箱内保存待测定。每次取样均注意叶片的均一性。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 紫外线吸收色素含量的测定** 参照Day<sup>[1]</sup>方法,称取珠芽蓼新鲜叶片组织0.2g,放入15mL酸性甲醇(甲醇:水:盐酸=90:1:1)(体积比)中热搅拌10min,室温下冷却15min,然后定容至25mL,用UV-1601紫外—可见光分光光度计分别读取300nm处的吸光度值(ABS),以此来相对定量植物叶片内紫外线吸收色素的含量。

**1.2.2 抗坏血酸含量的测定** 称取珠芽蓼新鲜叶片组织0.2g,置于研钵中加入少量石英砂及适量的氯化钠和2mL 10%的偏磷酸,充分研磨后于4000 r/min下离心3min,取上清液定容至25mL。然后取提取物500μL,依次加入1mL柠檬酸—磷酸缓冲液(pH=2.3)和1mL 2,6-二氯酚靛酚(30mg/L),30s后,在524nm处测定吸光度下降的速度<sup>[2]</sup>。以标准品抗坏血酸作吸光度下降速度标准曲线<sup>[3]</sup>。求出回归方程,进而求得叶片中抗坏血酸的含量,单位以mmol/g FW计。

**1.2.3 超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)含量的测定** 参照王爱国等(1990)<sup>[2]</sup>方法,准确称取珠芽蓼新鲜叶片组织0.2g,置于研钵中,再加入少量石英砂和1mL 62.5mmol/L, pH=7.8的磷酸缓冲液(PBS),充分研磨后于4000 r/min离心10min,取上清液定容至100mL。取以上提取酶液0.9mL,加入50μL 0.01mmol/L的盐酸羟胺,置室温下反应20min后,加入1mL 1%的α-萘胺和1mL 0.33%的对氨基苯磺酸,显色15min,测定530nm处的ABS值,以此相对定量O<sub>2</sub><sup>-</sup>的含量。

**1.2.4 超氧化物歧化酶含量的测定** 以超氧阴离子自由基提取法提取。然后向试管中依次加入2.4mL 62.5mmol/L pH=7.8磷酸缓冲液(PBS),0.2mL 3.6mmol/L核黄素,0.2mL 30mmol/L蛋氨酸,0.1mL 0.003mol/L乙二胺四乙酸二钠(EDTA),500μL酶液和0.2mL 0.125mmol/L氮蓝四唑(NBT)。以不加酶液(用PBS代替)的试管为最大光化还原管,用缓冲液作空白(用PBS代替NBT),然后将各管在400lx下反应25min进行光化还原,以UV-1601紫外—可见光光度计测定反应液在560nm处的吸光度(ABS)值,以抑制NBT光化还原50%作为一个酶单位(μ), $\mu = (ABS_{max} - ABS_{560nm}) \div (ABS_{max} \div 2)$ ,酶活性以μ/mg FW min表示。

**1.2.5 太阳光合有效辐射(PAR)、总辐射(Q)和紫外辐射(UV-B)强度的测定** 太阳光

合有效辐射和总辐射强度用美国产 L F-188B 辐射仪 190SB 量子传感器测定, 分别读取水平方向上的 PAR 和 Q 的值; 紫外辐射强度用北京师范大学光电仪器厂产紫外辐射仪测定, 光谱响应峰为 297 nm, 读取水平方向上的 UV-B 值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 太阳辐射强度的季节变化

太阳辐射是影响植物光合作用的重要因子, 是启动植物光合作用的原初能量。海北站 6 月份的光合有效辐射、总辐射以及紫外辐射强度最大, 7 月份较大, 5 月和 8 月次之(图 1)。在海拔 3200 m 的海北高寒草甸生态系统定位站, 太阳直接辐射较强, 约占太阳总辐射的 70%<sup>[3]</sup>。其中 6 月和 7 月全晴天 10: 00 到 16: 00 之间的太阳总辐射的强度多在  $1000 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$  左右, PAR 可达  $2300 \mu \cdot \text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , UV-B 辐射强度分别约为南京和西宁的 1.7 和 1.4 倍。在如此高的光强和特殊的光质条件下, 植物的光合作用等生理、生化过程以及适应性方面将受到强光的影响。

### 2.2 抗坏血酸含量的季节变化

实验结果显示, 海北站珠芽蓼叶片内抗坏血酸含量在 5 月到 9 月间(图 2), 于 7 月达到最大值  $0.56 \text{ mmol/g FW}$ 。抗坏血酸含量的高峰期与太阳辐射强度的高峰期不一致, 可能与高寒草甸植物生育期较短, 返青较迟有关。抗坏血酸(Vc)是植物体内重要的活性氧清除剂和抗氧化物质, 对光合作用的顺利进行有重要作用。Vc 可以还原超氧阴离子自由基<sup>[4]</sup>, 与氢氧自由基( $\text{OH}^{\cdot}$ )反应<sup>[5]</sup>, 清除过氧化氢并形成水<sup>[6]</sup>, 淬灭单线态氧<sup>[7]</sup>, 而且还能在叶黄素循环中还原紫堇质形成环氧玉米黄质和玉米黄质<sup>[8]</sup>, 在强光下使叶黄素快速启动并运转, 藉此清除光合作用过程中产生的活性氧。

### 2.3 紫外线吸收色素相对含量的季节变化

结果表明, 珠芽蓼叶片内紫外线吸收色素的相对含量在 5 月到 8 月间(图 3), 于 6 月份达到最大值。其含量的变化趋势与海北站紫外辐射强度的变化呈正相关关系(相关系数  $r = 0.88$   $n = 4$ ), 与紫外辐射高峰期一致(图 1)。紫外辐射是指太阳光谱中波长介于 280~400 nm 处的一段电磁波, 常常对植物的生长和发育<sup>[9]</sup>以及作物的产量<sup>[10]</sup>产生影响。也可以影响到植物的色素代谢<sup>[11]</sup>, 核酸代谢<sup>[12]</sup>以及植物的光合作用<sup>[10]</sup>等。紫外线吸收色素主要位于植物的表皮细胞内, 主要包括黄酮、类黄酮和花色苷等。紫外线吸收色素的存在,

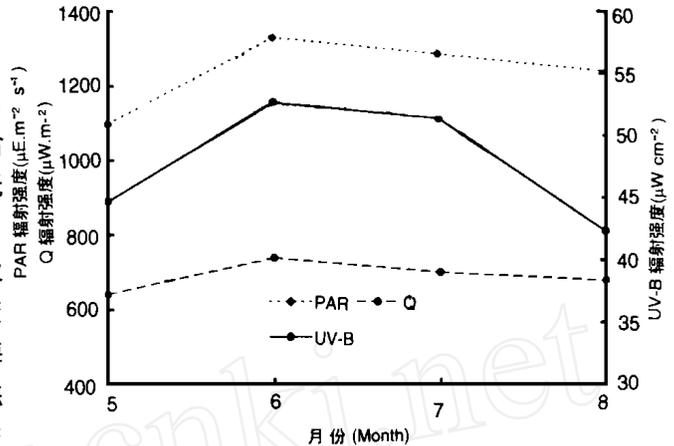


图 1 海北站太阳光合有效辐射(PAR)、总辐射(Q)以及紫外辐射(UV-B)强度的季节变化

注: 辐射强度均为 1 天当中 8: 00 至 18: 00 的平均值

Fig 1 Seasonal variations in PAR, Q and UV-B intensity in Haibei research station

Note: The above data were expressed as the averages of solar radiation from 8: 00 to 18: 00 in Haibei station

起着—个防护滤器的作用,使投射到叶片90%的紫外辐射得以过滤,其余的则以表皮毛、刺、蜡质来反射和吸收<sup>[11]</sup>。紫外线吸收色素与紫外辐射强度相关的相对含量的变化反映了其自身在植物体内对付环境紫外辐射的能力。植物表皮细胞内高含量的紫外线吸收色素可以强烈吸收紫外辐射,减少其对细胞内部的伤害,从而适应高海拔地区强烈的紫外辐射。

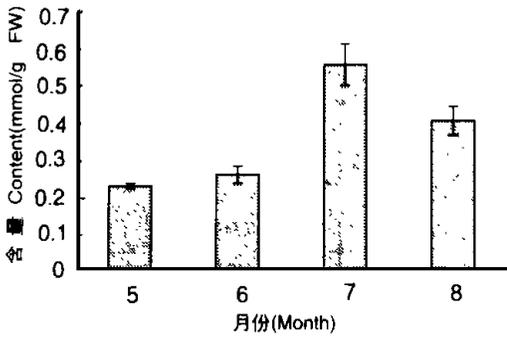


图2 海北站珠芽蓼叶片抗坏血酸含量的季节变化

Fig. 2 Seasonal variation in ascorbic acid of *Polygonum viviparum* in Haibei research station

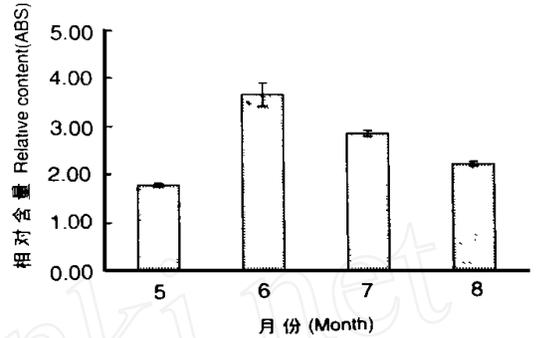


图3 海北站珠芽蓼叶片紫外线吸收色素含量的季节变化

Fig. 3 Seasonal variation in ultraviolet absorbing compounds of *Polygonum viviparum* in Haibei research station

#### 2.4 超氧阴离子自由基相对含量的季节变化

实验结果表明,珠芽蓼叶片内 $O_2^{\cdot-}$ 的最高含量出现在太阳辐射最强的6月份(图4)。 $O_2^{\cdot-}$ 是植物光合作用过程中产生的一种具有很大毒性的活性氧,它能对光合色素和光合膜造成巨大损伤,因而对光合系统造成巨大破坏。更为严重的是超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )又可以通过其它途径转化为毒性更大的过氧化氢( $H_2O_2$ )、单线态氧( $^1O_2$ )和 $OH^{\cdot}$ ,它们对光合膜以及许多生物大分子有一定的破坏作用。海北站较强的太阳辐射,特别是紫外辐射,较低的温度,较少的降水以及夜间霜冻等自然条件,使植物经常处于胁迫环境中。当植物光合作用不能完全利用叶绿素吸收的光能时,强光便会造成光抑制及光氧化破坏,产生一系列的活性氧。超氧阴离子自由基相对含量在生长季内的变化,说明太阳辐射及其它环境因子直接影响植物叶片内 $O_2^{\cdot-}$ 的含量。

#### 2.5 超氧化物歧化酶活性的季节变化

结果显示,珠芽蓼叶片内超氧化物歧化酶活性于7月份达到最大值(图5)。5月、6月海北站植物尚处于返青和初期生长阶段,体内超氧化物歧化酶活性明显较7月份低。7月到8月间超氧化物歧化酶活性略有降低。超氧化物歧化酶活性峰值与太阳辐射强度峰值产生的错位,可能与低温造成的返青期滞后和生育期缩短有关。超氧化物歧化酶作为一种重要的抗氧化剂,可降低超氧阴离子自由基的代谢水平。

高海拔地区空气稀薄,二氧化碳和氧浓度低,日辐射强,温度偏低,昼夜温差大,夜间又多霜冻,植物需动员整个防御系统以抵抗光氧化伤害。高海拔植物对环境的适应性与高光强下植物体内的抗氧化物质的含量(或活性)以及可见光的修复密切相关。植物体内存在的酶促和非酶促两类防御活性氧的保护系统积极参与活性氧的清除过程,在很大程度上

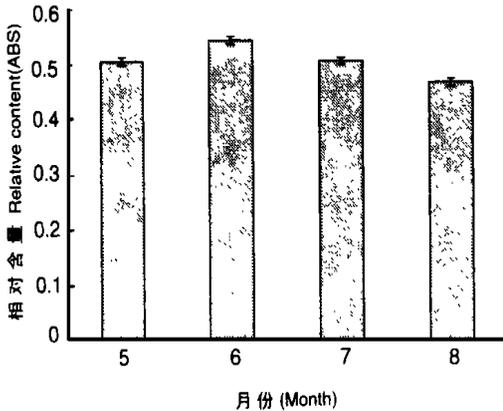


图 4 海北站珠芽蓼叶片超氧阴离子自由基含量的季节变化

Fig 4 Seasonal variation in the content of superoxide radical ( $O_2^-$ ) of *Polygonum viviparum* in Haibei research station

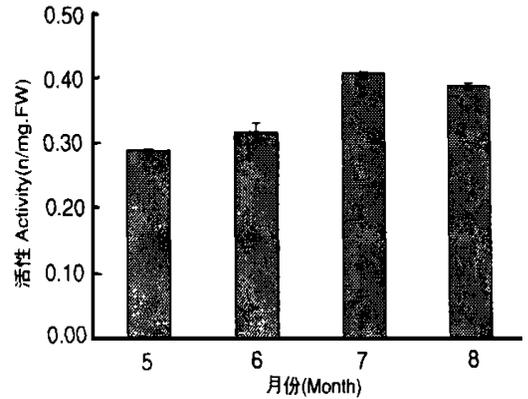


图 5 海北站珠芽蓼叶片超氧化物歧化酶活性的季节变化

Fig 5 Seasonal variation in superoxidase (SOD) activity of *Polygonum viviparum* in Haibei research station

上降低了细胞活性氧的水平,使得逆境环境下的高海拔植物在生化方面建立了一套适应机制。高寒地区植物其它的抗氧化系统还有待于进一步研究。

## 参考文献:

- [1] DAY T A. Relating UV-B radiation screening effectiveness of foliage to absorbing compound concentration and anatomical characteristics in a diverse group of plants [J]. *Oecologia*, 1993; **95**: 542~ 550
- [2] 王爱国, 罗光华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990; **6**: 55
- [3] 贲桂英, 韩发, 师生波, 等. 高寒草甸生态系统微气候和植物的生理生态反应 I. 定位站地区太阳辐射特征及植物冠层对辐射吸收的分析[J]. *高寒草甸生态系统*, 第三集, 1991: 35~ 44
- [4] NISHIKIMI. Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. [J]. *Biochem Biophys Res Commun.*, 1975; **63**: 463~ 468
- [5] LAW M Y, et al. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effects of hydrogen peroxide and of paraquat[J]. *Biochem J.*, 1983; **210**: 889~ 913
- [6] ANBAR M, et al. Compilation of specific bimolecular rate constants for the reaction of hydrated electrons in aqueous solution[J]. *Int J Appl Radiat Isot.*, 1967; **18**: 493~ 523
- [7] BODANNET R S, et al. Ascorbic acid as a scavenger of singlet oxygen[J]. *FEBS Lett.*, 1979; **105**: 195~ 196
- [8] YAMAMOTO H Y. Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants[J]. *Pure Appl Chem.*, 1979; **51**: 639~ 648
- [9] TERAMURA A H. Effects of UV-B radiation on the growth and yield of crop plants[J]. *Physiol Plant.*, 1983; **58**: 415
- [10] TERAMURA A H, MURALIW S. Intraspecific differences in growth and yield of soybean exposed to UV-B radiation under greenhouse and field conditions[J]. *Environ and Experi Bot.*, 1986; **26**: 89
- [11] 王小菁, 潘瑞焜. UV-B 对高等植物生长和产量及某些生理代谢过程的影响[J]. *植物生理学通讯*, 1995; **31**(5): 385~ 389
- [12] STAPLET A E. Ultraviolet radiation and plants: burning questions[J]. *Plant Cell.*, 1992; **4**: 1353